

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局



(43) 国际公布日:
2004年11月18日(18.11.2004)

PCT

(10) 国际公布号:
WO 2004/098623 A1

- (51) 国际分类号⁷: A61K 35/78 (21) 国际申请号: PCT/CN2004/000409 (22) 国际申请日: 2004年4月27日 (27.04.2004) (25) 申请语言: 中文 (26) 公布语言: 中文 (30) 优先权: 03130709.4 2003年5月7日 (07.05.2003) CN (71) 申请人(对除美国以外的所有指定国): 丽珠集团利民制药厂(LI MIN PHARMACEUTICAL FACTORY OF LIVZON PHARMACEUTICAL GROUP) [CN/CN]; 中国广东省韶关市工业西路, Guangdong 512028 (CN). (72) 发明人; 及 (75) 发明人/申请人(仅对美国): 谢伟宏(XIE, Weihong) [CN/CN]; 刘学华(LIU, Xuehua) [CN/CN]; 陈茂如(CHEN, Maoru) [CN/CN]; 中国广东省韶关市工业西路, Guangdong 512028 (CN). (74) 代理人: 北京纪凯知识产权代理有限公司(JEEKAI & PARTNERS); 中国北京市宣武门西大街甲129号金隅大厦601室, Beijing 100031 (CN).

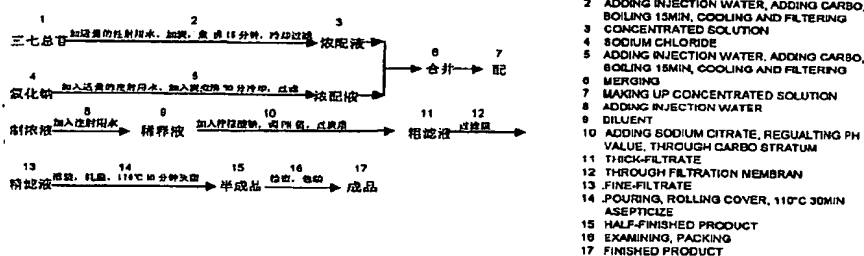
(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW (84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚专利(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧洲专利(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)

本国际公布:
— 包括国际检索报告。

所引用双字母代码和其它缩写符号, 请参考刊登在每期PCT公报期刊起始的“代码及缩写符号简要说明”。

(54) Title: A NOTOGINSENG SAPONIN INTRAVENOUS INJECTION AND THE METHOD FOR PREPARING THIS INJECTION

(54) 发明名称: 一种三七总皂苷静脉注射液及其生产方法



(57) **Abstract:** The present invention discloses a notoginseng saponin large capacity intravenous injection and the method for preparing this injection. The injection of the present invention consists of notoginseng saponin, isoosmotic agent, PH regulator, the solvent of the injection is injection distilled water. A refined injection is prepared through dissolving isoosmotic agent by injection distilled water; adding acticarbon, filtering; adding notoginseng saponin in the filtertes, agitating to dissolution; adding PH regulator, filtering to clarification, asepticizing, packing, then notoginseng saponin large capacity intravenous injection is prepared.

[见续页]

WO 2004/098623 A1



(57) 摘要

本发明公开了一种三七总皂苷静脉注射液及其生产方法，目的是提供一种预防和治疗心脑血管疾病及其后遗症的大容量、pH 值稳定的以三七总皂苷为主要活性成分的静脉注射液及其生产方法。本发明的三七总皂苷静脉注射液，基本上由浓度为 0.1 mg—14.0 mg（以 Rg1 计）/ml 的三七总皂苷，浓度为 7.5—9.5mg/ml 的等渗剂，浓度为 0.2—0.5mg/ml 的 pH 值稳定剂组成；所述注射液的溶剂为注射用蒸馏水。生产三七总皂苷注射液的方法是（1）用注射用蒸馏水溶解等渗剂，使之浓度为 50—300mg/ml，然后加入活性炭，过滤；（2）滤液中加入三七总皂苷，使之浓度为 0.1 mg—14.0 mg（以 Rg1 计）/ml，搅拌溶解；（3）加入 pH 值稳定剂，使之浓度为 0.2—0.5mg/ml，然后过滤至澄明，灭菌，包装，即得到三七总皂苷静脉注射液。

一种三七总皂苷静脉注射液及其生产方法

技术领域

本发明涉及静脉注射液及其生产方法，特别是涉及一种三七总皂
5 苷静脉注射液及其生产方法。

背景技术

中药三七为五加科植物（*Panax notoginseng*(Burk.)F.H.Chen）的干燥根。秋季花开前采挖，洗净，分开主根、支根和茎基，干燥。支根
10 习称“筋条”，茎基习称“剪口”。性温，气微，味苦回甜。

中药三七提取物中的主要成分是三七总皂苷，具有治疗心脑血管疾病的功效。目前市面上的三七制剂，如血栓通注射液、血塞通注射液等在临床上已广泛应用，具有活血去瘀，扩张血管，改善血液循环的作用。但是在临床应用过程中，常常因为稀释剂选择不当、联合用
15 药过多、微粒异物及药物配伍不当等原因，造成输液反应，给患者带来额外的痛楚，严重的可危及生命。

研究表明，微粒异物注入人体后，可引起热原样反应、过敏反应等疾病，甚至危及生命。鉴于微粒异物的危害性，各国药典对大容量注射剂的微粒数限度都有要求。但对小容量注射剂及粉针剂至今仍未
20 有规定。现今，静脉给药常常是多种药物配伍，研究表明，药物配伍后输液中的微粒数会增加，而且以加入中药注射剂和粉针剂的静脉注射液尤甚。许多中药注射剂与输液配伍后不溶性微粒明显增多，其原因是中药成分复杂，各厂家制备工艺不同，使有效成分的提取和杂质去除有较大差异。一些成份如色素、鞣质、淀粉、蛋白质等以胶态形
25 式存在于药液中，药物与输液配伍后发生氧化、聚合或由于 pH 改变而使生物碱、皂苷等析出产生大量不溶性微粒。目前血塞通、复方丹参、刺五加、 β -七叶皂苷钠等中药针剂，一般用 5% 或 10% 葡萄糖注射液稀释后静滴，而不宜选用生理盐水。因为中药提取制剂成份较为复杂，与生理盐水配伍后可能会因盐析作用而产生大量不溶性微粒，提高输
30 液反应的发生率，一旦稀释剂选择不当极易造成医疗事故（钟洪兰，输液反应的原因分析和处理，广东药学 2002 年第 12 卷第 4 期）。

药物配伍不当，使配制后的溶液澄明度受影响，产生结晶或 pH 值改变【罗秀金，1999，导致静脉输液发热反应的因素及其预防。中华护理杂志，34（10）】。联合用药过多及药物配伍不当导致输液反应。当液体加入多种药物时，因反复穿刺瓶塞，导致污染的机会增加。用 5 10%葡萄糖注射液加入氯霉素和维生素 C、红霉素或维生素 C，四环素等针剂后，液体澄明度不合规定，其内有结晶、色块、白块等。10%葡萄糖注射液加入注射用四环素时 pH 值降低至不合格范围。粉剂药物如溶解不充分，可出现药物颗粒。青霉素 G 溶在葡萄糖中有效期仅 2 小时，青霉素的水溶液放置时间过长还将增加致敏物质的含量，使变 10 态反应的发生率增加（牛桂田，临床输液污染的实验研究，实用护理杂志，1993，9（4），25-27）。此外，任何稀释液放置过久均易增加污染的机会。由于药物的溶解度、酸碱度、放置时间及温度条件的影响，使配伍后药液发生变化而影响药液质量。而且当配伍剂量大，品种多时，所含热原累加到一定量时，输入体内亦会发生热原反应。

15 皂苷类物质在水溶液中，pH 值选择不当，易使其水解，溶解度降低，药液中产生白点、白块甚至絮状物，影响产品的质量。因此，三七总皂苷注射液生产和贮存过程中如何选择合适的 pH 值并保持 pH 值的相对稳定，是至关重要的问题。

目前临床上使用的中药三七制剂，除口服制剂，还有注射剂（小 20 针），注射剂有速效、生物利用度高等特点，尤其适用于不能口服给药和抢救危重病患者。但小容量注射剂在使用过程中容易被污染，操作繁琐，一方面会造成患者的输液反应，另一方面加大了医务工作者的工作量。

25 发明内容

本发明的目的是提供一种预防和治疗心脑血管疾病及其后遗症的大容量、pH 值稳定的三七总皂苷静脉注射液。

为实现以上目的，本发明采取以下技术方案：

本发明所提供的三七总皂苷静脉注射液，基本上由浓度为 0.1 mg 30 —14.0 mg（以 Rg1 计）/ml 的三七总皂苷，浓度为 7.5—8.5mg/ml 的等渗剂，浓度为 0.1—0.5mg/ml 的 pH 值稳定剂组成；所述注射液的溶剂

为注射用蒸馏水。

其中，所述三七总皂苷的浓度优选为 1.4mg（以 Rg1 计）/ml；所述等渗剂可为氯化钠、葡萄糖、山梨醇等，优选为氯化钠，氯化钠的浓度在 7.5-9.5mg/ml 之间，优选浓度为 8.5mg/ml；所述 pH 值稳定剂可为柠檬酸钠、柠檬酸、磷酸盐、醋酸盐。优选为柠檬酸钠，柠檬酸钠的浓度为 0.1—0.5mg/ml，优选浓度为 0.3mg/ml。

本发明的第二个目的是提供一种生产三七总皂苷静脉注射液的方法。

本发明所提供的生产三七总皂苷注射液的方法，包括以下步骤：

10 （1）用注射用蒸馏水溶解等渗剂，使之浓度为 80—300mg/ml，然后加入活性炭，过滤；（2）滤液中加入三七总皂苷，使之浓度为 0.1 mg—14.0 mg（以 Rg1 计）/ml，搅拌溶解；（3）加入 pH 值稳定剂，使之浓度为 0.1—0.5mg/ml，然后过滤至澄明，灭菌，包装，即得到三七总皂苷静脉注射液。

15 上述方法中所述等渗剂优选的为氯化钠，其浓度为 8.5mg/ml；所述 pH 值稳定剂为柠檬酸钠，其浓度为 0.3mg/ml。

本发明的药物是以三七总皂苷为主要活性成分的预防和治疗心脑血管疾病及后遗症的大容量静脉注射液。药液浓度为每 1ml 中含 0.1mg—14.0mg 三七总皂苷（以 Rg1 计）。

20 本发明的药物用量可根据患者的年龄、体重、疾病的严重程度进行调整，每次用量一般为 140mg—350mg（三七总皂苷），一日 1—2 次，28 天为一疗程，静脉滴注。

本发明的药物为大容量注射剂，使用时直接静脉滴注给药，安全，使用方便。

25 动物试验结果显示：本发明的三七总皂苷静脉注射液是一种较好的脑缺血保护药物；可显著地增加实验动物的脑血流量及降低其脑血管阻力；用于治疗栓塞性脑血管疾病，有较好的疗效；有明显的活血化瘀作用；对兔眼球结膜微循环障碍状态，有显著的改善作用，能加快血流速度，增加毛细血管开放数。

30 本发明生产三七总皂苷静脉注射液的方法操作简单方便，实用性和启发性较强，尤其是在三七总皂苷静脉注射液的处方中加入 pH 值稳定

剂，稳定了药液的 pH 值，成功地解决了注射液因 pH 值下降而使三七皂苷类物质水解，影响静脉注射液的澄明度等质量问题。

下面结合附图及具体实施例对本发明做进一步说明。

5 附图说明

图 1 为生产三七总皂苷静脉注射液的工艺流程图

具体实施方式

实施例 1，三七总皂苷静脉注射液的配制

10	1.原料		
	三七总皂苷（以 Rg1 计）	0.1g	
	柠檬酸钠	0.3g	
	氯化钠	7.5g	
	活性炭	0.8g	
15	注射用蒸馏水	（加至）	1000ml

2.生产方法

其生产工艺流程如图 1 所示，可按如下操作实现三七总皂苷注射液的生产：称取 7.5g 氯化钠，加入注射用蒸馏水，溶解，使之浓度为 100ml/mg,然后加入 0.4g 的活性炭，搅拌均匀后煮沸，冷却，过滤，去炭，滤液中加入 0.1g 三七总皂苷（以 Rg₁ 计），搅拌溶解。加入 0.3g 柠檬酸钠，溶解后用氢氧化钠溶液调 pH 值为 6.0，加水至 1000ml，过 0.4 g 的活性炭层，过 0.45μm 及 0.22μm 的滤膜至澄明，灌装于 100ml 输液瓶中，轧盖，110 灭菌，检查，包装,即得到三七总皂苷静脉注射液。

25 实施例 2，三七总皂苷静脉注射液的配制

	1.原料		
	三七总皂苷（以 Rg1 计）	1.0g	
	柠檬酸钠	0.3g	
	氯化钠	8.5g	
30	活性炭	0.8g	
	注射用蒸馏水	（加至）	1000ml

2.生产方法

其生产工艺流程如图 1 所示,可按如下操作实现三七总皂苷注射液的生产:称取 8.5g 氯化钠,加入注射用蒸馏水,溶解,使之浓度为 100ml/mg,然后加入 0.4g 的活性炭,搅拌均匀后煮沸,冷却,过滤,去炭,滤液中加入 1.0g 三七总皂苷(以 R_{g1} 计),搅拌溶解。加入 0.3g 柠檬酸钠,溶解后用氢氧化钠溶液调 pH 值为 6.0,加水至 1000ml,过 0.4 g 的活性炭层,过 0.45 μ m 及 0.22 μ m 的滤膜至澄明,灌装于 100ml 输液瓶中,轧盖,110 灭菌,检查,包装,即得到三七总皂苷静脉注射液。

10 实施例 3, 三七总皂苷静脉注射液的配制

1.原料

	三七总皂苷(以 R_{g1} 计)	1.4g
	柠檬酸钠	0.3g
	氯化钠	8.5g
15	活性炭	0.8g
	注射用蒸馏水 (加至)	1000ml

2.生产方法

其生产工艺流程如图 1 所示,可按如下操作实现三七总皂苷注射液的生产:称取 8.5g 氯化钠,加入注射用蒸馏水,溶解,使之浓度为 100ml/mg,然后加入 0.4g 的活性炭,搅拌均匀后煮沸,冷却,过滤,去炭,滤液中加入 1.4g 三七总皂苷(以 R_{g1} 计),搅拌溶解。加入 0.3g 柠檬酸钠,溶解后用氢氧化钠溶液调 pH 值为 6.0,加水至 1000ml,过 0.4 g 的活性炭层,过 0.45 μ m 及 0.22 μ m 的滤膜至澄明,灌装于 100ml 输液瓶中,轧盖,110 灭菌,检查,包装,即得到三七总皂苷静脉注射液。

25 实施例 4, 三七总皂苷静脉注射液的配制

1.原料

	三七总皂苷(以 R_{g1} 计)	3.5g
	柠檬酸钠	0.3g
30	氯化钠	8.5g
	活性炭	0.8g

注射用蒸馏水 (加至) 1000ml

2. 生产方法

其生产工艺流程如图 1 所示, 可按如下操作实现三七总皂苷注射液的生产: 称取 8.5g 氯化钠, 加入注射用蒸馏水, 溶解, 使之浓度为 200ml/mg, 然后加入 0.4g 的活性炭, 搅拌均匀后煮沸, 冷却, 过滤, 去炭, 滤液中加入 3.5g 三七总皂苷 (以 R_{g1} 计), 搅拌溶解。加入 0.3g 柠檬酸钠, 溶解后用氢氧化钠溶液调 pH 值为 6.0, 加水至 1000ml, 过 0.4 g 的活性炭层, 过 0.45 μ m 及 0.22 μ m 的滤膜至澄明, 灌装于 100ml 输液瓶中, 轧盖, 110 $^{\circ}$ 灭菌, 检查, 包装, 即得到三七总皂苷静脉注射液。

实施例 5, 三七总皂苷静脉注射液的配制

1. 原料

三七总皂苷 (以 R_{g1} 计)	7.0g
柠檬酸钠	0.3g
氯化钠	9.5g
活性炭	1.0g
注射用蒸馏水 (加至)	1000ml

2. 生产方法

其生产工艺流程如图 1 所示, 可按如下操作实现三七总皂苷注射液的生产: 称取 9.5g 氯化钠, 加入注射用蒸馏水, 溶解, 使之浓度为 200ml/mg, 然后加入 0.4g 的活性炭, 搅拌均匀后煮沸, 冷却, 过滤, 去炭, 滤液中加入 7.0g 三七总皂苷 (以 R_{g1} 计), 搅拌溶解。加入 0.3g 柠檬酸钠, 溶解后用氢氧化钠溶液调 pH 值为 6.0, 加水至 1000ml, 过 0.6g 的活性炭层, 过 0.45 μ m 及 0.22 μ m 的滤膜至澄明, 灌装于 100ml 输液瓶中, 轧盖, 110 $^{\circ}$ 灭菌, 检查, 包装, 即得到三七总皂苷静脉注射液。

实施例 6, 三七总皂苷静脉注射液对大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用实验

(1) 受试药物: 5% 三七总皂苷注射液, 丽珠集团利民制药厂生产, 规格 100ml, 批号 20000301。临床用三七总皂苷注射液为每次静脉滴注 350mg/250ml (以三七总皂苷计), 一日 1~2 次, 28 天为一疗

程。实验时将 5%三七总皂苷注射液用生理盐水稀释成所需浓度。

(2) 受试动物: SD 大鼠 150 只, 体重 280.45 ± 14.91 克, 雌雄各半。

(3) 给药剂量设置: 按实验动物与人用药量 mg/kg-mg/m^2 转换因子计算方法计算, 以动物用量等效计量的 1、2 和 4 倍量分别作为大鼠的低、中和高剂量组。三七总皂苷静脉注射液成人每日用药 250ml (含三七总皂苷 350mg), 即三七总皂苷 350mg/60kg/日。大鼠等效剂量: $350\text{mg}/60\text{kg} \times 35/6 \approx 34.03\text{mg}$ 三七总皂苷/kg, 高、中、低剂量分别为 $34.03 \times 4 = 136.12\text{mg/kg}$ 、 $34.03 \times 2 = 68.06\text{mg/kg}$ 、 $34.03 \times 1 = 34.03 \text{mg/kg}$ 。

以目前国内临床常用的治疗脑血栓性疾病的中药制剂复方丹参注射液为对照, 成人剂量: 每次 10ml (含生药 10g), 每日 2 次, 即 20g 生药/60kg/日。复方丹参注射液大鼠剂量: $20\text{g}/60\text{kg} \times 35/6 \approx 1.94\text{g/kg}$ 。

(4) 实验室条件: 室温 25°C , 相对湿度 60%~70%

(5) 实验方法

SD 大鼠 150 只, 雌雄各半, 体重 282.11 ± 14.77 克, 随机分为 6 组, 每组 25 只, 第一组为假手术组, 第二组为模型组, 第三组为复方丹参注射液组, 第四组至第六组为三七总皂苷静脉注射液低、中、高剂量组, 各给药组均采用舌静脉给药, 连续给药 4 天, 一、二组注射相同体积的生理盐水。末次给药 1 小时后, 以乌拉坦 1g/kg ip 麻醉动物, 手术分离双侧颈总动脉, 穿线备用, 股静脉静注 5%伊文思蓝 (EB) 50mg/kg , 同时注射肝素 486u/kg , 5 分钟后无创动脉夹夹闭模型组及各给药组的双侧颈总动脉, 同时股动脉放血 2.5ml, 假手术组不做此二项处理, 3 小时后松开模型组及各给药的动脉夹进行再灌注 30 分钟, 然后, 迅速在冰垫上断头取大脑 (小心去掉嗅球、小脑及低位脑干), 每组随机取 2 个大鼠大脑分别固定于甲醛及戊二醛中做形态学观察, 其余称重后浸泡于 5ml 甲酰胺中, 45°C 温育 48 小时, 期间定时振摇, 然后取上清液, 加入氯仿 1.5ml, 离心、取上清在紫外分光光度计上比色 (620nm), 根据标准曲线计算各鼠脑内的伊文思蓝含量。另将各鼠脑置于 110°C 烤箱烤至恒重, 准确称重后计算脑含水量% = (脑湿重 - 脑干重) / 湿脑重 $\times 100\%$ 及脑指数 (脑湿重/100g 体重)。

(6) 结果

1) 三七总皂苷静脉注射液对实验大鼠的脑指数、脑含水量及伊文思蓝(EB)含量的影响

实验结果如表1所示,表明:与模型组相比,假手术组的脑指数、脑含水量及脑的EB含量均降低,统计学上有显著性差异,说明手术造模成功;三七总皂苷静脉注射液三个给药剂量组与模型组相比,上述指标亦均有降低,统计学上有显著性差异,说明三七总皂苷注射液可改善实验动物由于不完全性脑缺血再灌注而引起的损伤,表明该药有减轻缺血再灌注性脑血管通透性增高和脑水肿的作用,进而保护大脑。

2) 三七总皂苷静脉注射液对大鼠脑组织形态学变化的影响

光镜表现:假手术组镜下表现基本正常,偶见毛细血管内充血,血管及神经细胞周围间隙稍有扩张;模型组呈现典型的细胞水肿、变性、坏死表现,可见脑膜血管周围间隙明显扩大,神经元及脑实质细胞周围间隙明显扩大,细胞核肿胀,核仁不清楚,虎斑消失,脑实质内有出血,局部有些胶质细胞集结成团,偶见细胞缺血坏死灶,表现为细胞数变少,细胞轮廓消失,并有局灶性出血;阳性对照组及三七总皂苷注射液三个剂量组亦有不同程度细胞水肿及变性表现,但程度远较模型组轻,表现为细胞及血管周围间隙扩大,血管内充血,高剂量治疗组可见小胶质细胞增生。

电镜表现:假手术组,镜下见细胞结构清楚,轴突及核膜完整,染色质分布均匀,线粒体、高尔基体及粗面内质网结构清晰可见,结构未见异常;模型组,神经细胞肿胀,细胞器数量减少,核内染色质凝聚,高尔基体池扩大并出现空泡,粗面内质网肿胀,线粒体肿胀明显,嵴结构不清,血管周围间隙扩大,内膜破坏,部分有核内染色质溶解;三七总皂苷注射液各剂量组及阳性对照组,镜下有缺血水肿表现,但远比模型组轻,表现在细胞结构大致存在,细胞器数量较假手术组减少,可见染色质凝聚,粗面内质网、高尔基体及线粒体不同程度肿胀,但远较模型组为轻。

由光镜及电镜结果可见,模型组细胞损伤最重,说明造模成功,而三七总皂苷注射液各剂量组及阳性对照组细胞损伤远较模型组为轻,且随三七总皂苷注射液剂量增大,细胞损伤逐渐减轻,说明三七总皂苷注射液具有保护急性不完全性脑缺血再灌注损伤的作用。

表 1: 三七总皂苷注射液对实验性脑缺血再灌注损伤的大鼠的作用 (n=20)

组别	剂量(mg/kg)	EB 含量 (g/g 脑湿重)	脑指数(g 脑/100g 体重)	脑含水量(%)
模型组	---	12.10±0.56	0.64±0.02	81.17±0.60
假手术组	---	6.81±0.75***	0.55±0.02***	77.14±1.00***
复方丹参组	1940	10.56±0.49***	0.64±0.01	80.09±0.73***
三七总皂苷静脉注射液低剂量组	34.03	9.81±0.39***	0.63±0.01*	80.44±0.60**
三七总皂苷静脉注射液中剂量组	68.06	9.61±0.32***	0.60±0.01***	78.63±0.57***
三七总皂苷静脉注射液高剂量组	132.12	9.55±0.31***	0.60±0.01***	78.99±0.73***

*与模型组相比 $p<0.05$. ** $p<0.01$. *** $p<0.001$

上述结果证实, 三七总皂苷静脉注射液对于实验性大鼠的急性不完全性脑缺血再灌注损伤具有一定的保护作用, 值得在临床上进一步推广、应用。

实施例 7, 三七总皂苷静脉注射液对麻醉犬脑血管的影响

(1) 受试药物与剂量: 5%三七总皂苷注射液: 丽珠集团利民制药厂生产, 规格 100ml, 批号 20000301。临床用三七总皂苷静脉注射液为每次静脉滴注 350mg/250ml (以三七总皂苷计), 一日 1~2 次, 28 天为一疗程。实验时按实验动物与人用药量 mg/kg - mg/m^2 转换因子计算方法计算, 以动物用量等效计量的 1、2 和 4 倍量分别作为犬的低、中和高剂量组。成人剂量为 250ml, 1 次/日。即三七总皂苷 350mg/60kg/日。犬剂量为①等效剂量: $350\text{mg}/60\text{kg} \times 35/19 \approx 10.75\text{mg/kg}$; ②低剂量组: $10.75 \times 1 = 10.75\text{mg/kg}$; ③中剂量组: $10.75 \times 2 = 21.5\text{mg/kg}$; ④高剂量组: $10.75 \times 4 = 43\text{mg/kg}$ 。临用前将 5%三七总皂苷注射液及脉络宁注射液用生理盐水稀释成所需浓度。

以脉络宁注射液 (南京金陵制药集团有限公司生产, 药材含量 10g/ml, 批号 960812) 为对照。成人剂量每次 10ml (生药 10g), 2/日, 即 20g/60kg/日。犬剂量①等效剂量: $20\text{g}/60\text{kg} \times 35/19 \approx 0.61\text{g/kg}$; ②给药剂量: $0.61 \times 4 = 2.44\text{g/kg}$ 。生理盐水注射液: 南方医院制剂室生产, 批号 20000926。

(2) 实验动物: 健康成年杂种犬 30 只, 体重 11~15kg, 雌雄各

半。

(3) 实验室条件: 室温 25℃, 相对湿度 60%~70%, 实验室设备常规定期消毒。

(4) 仪器: 电磁流量计, 型号 FM-27, 日本光电工业株式会社;
5 八道生理记录仪, 型号 RM-6000, 日本光电株式会社与成都仪器厂合作生产。

(5) 给药途径与方法: 静脉注射, 给药容积按 30ml/kg。

(6) 实验对照: 阴性对照组给予等体积生理盐水, 阳性对照组给予 4 倍等效剂量的脉络宁注射液。

10 (7) 实验数据统计

实验数据按 t-检验统计处理, 采用药理学统计计算程序进行给药前后及各组 and 阴性对照组比较。

(8) 实验方法

将实验动物随机分成 5 组, 即阴性对照组、阳性对照组及三七总皂苷注射液低、中、高剂量组。将犬用 3%戊巴比妥钠 30mg/kg 静脉麻醉, 仰位固定于手术台上, 实验开始后, 以 1mg/ml 戊巴比妥钠加入生理盐水中滴注, 作为维持麻醉。颈部纵切口约 10cm, 分离左侧颈总动脉, 并结扎其同侧颈外动脉及椎动脉, 将电磁流量计 4 号钳式探头置于颈总动脉, 经电磁流量计测得颈总动脉血流量, 即可视为脑血流量。同时分离出一侧股动、静脉, 动脉连接压力换能器, 静脉连接三通管预备给药, 四肢插心电图探头监测心电图。采用 RM6000 八道生理记录仪同步记录股动脉血压、II 导心电图及颈动脉平均血流量。当仪器显示的颈动脉平均血流量、心电图及血压稳定后, 记录正常值并开始静脉给药, 各组给药容积均按 30ml/kg, 随即同步记录给药后即刻、5min、
20 15min、30min 及 60min 各时间点的脑血流量、血压及心率。实验结束时, 开颅自延髓向上将全脑切下称重除以 2 得一侧脑重, 将实验测得的脑血流量除以一侧脑重即得每克脑组织每分钟脑血流量。以平均动脉压除以每克脑组织每分钟血流量得脑血管阻力指数。

(9) 结果

30 1) 三七总皂苷注射液对麻醉犬心率的影响

实验结果表明, 仅三七总皂苷静脉注射液低剂量组在给药后 5min、

15min 及中剂量组给药即刻的心率变化有统计学意义，其余各组及各时间点均无统计学差异（见表 2）。

2) 三七总皂苷静脉注射液对麻醉犬血压的影响

由表 3、4、5 可见，三七总皂苷静脉注射液各剂量组在给药 15min 内可引起麻醉犬的收缩压下降（ $P<0.05$ ），对舒张压影响不明显（仅低剂量组在给药 5min 时的血压下降有统计学意义），对平均压则只有中、低剂量组在给药 5min 内血压下降有统计学意义，高剂量组给药后则无显著变化。

表 2、三七总皂苷静脉注射液对麻醉犬心率的影响（beats/min, $\bar{X} \pm SD$ ）

	给 药 前	给 药					后
		即刻	5min	15min	30min	60min	
阴性对照组	212 ± 13.3	213.5 ± 10.7	213 ± 12.7	211.8 ± 12.4	209 ± 11	209.5 ± 12	
阳性对照组	202.2 ± 16.35	195.2 ± 17.51	196.2 ± 15.56	195 ± 16.67	191.4 ± 15.06	191.2 ± 12.87	
低剂量组	204 ± 20.86	204.67 ± 21.22	178.67 ± 17.87**	178.33 ± 15.74**	189.33 ± 14.68	202.67 ± 17.99	
中剂量组	193.83 ± 17.85	189.5 ± 20.60*	193.33 ± 27.75	194.33 ± 24.68	195.5 ± 21.87	193.83 ± 21.89	
高剂量组	200.83 ± 13.83	178.5 ± 28	181.33 ± 32.78	196.17 ± 12.17	195.83 ± 9.5	198.67 ± 15.11	

10 给药前后比较，* $P<0.05$ ，** $P<0.01$ ；与阴性对照组比较，* $P<0.05$ ，** $P<0.01$

表 3、三七总皂苷静脉注射液对麻醉犬收缩压的影响（Kpa, $\bar{X} \pm SD$ ）

	给 药 前	给 药					后
		即刻	5min	15min	30min	60min	
阴性对照组	20.8 ± 0.9	21.1 ± 0.9	21.0 ± 0.9	20.8 ± 0.9	20.6 ± 0.6	20.7 ± 0.8	
阳性对照组	21.1 ± 0.8	18.5 ± 2.5	20.1 ± 0.8	20.7 ± 0.7	20 ± 0.6	20.5 ± 0.5	
低剂量组	20.7 ± 1.3	18.1 ± 2.3	14.1 ± 4.2**	15.4 ± 4.5*	18.7 ± 3.3	20.9 ± 1.4	
中剂量组	21.3 ± 1.6	16.4 ± 2.7**	17.7 ± 2.9	20.3 ± 1.1	21.1 ± 1.0	21.2 ± 1.4	
高剂量组	21.2 ± 1.4	15.3 ± 3.5*	19.5 ± 2.3	20.9 ± 1.3	20.9 ± 1.3	21.5 ± 1.0	

15 给药前后比较，* $P<0.05$ ，** $P<0.01$ ；与阴性对照组比较，* $P<0.05$ ，** $P<0.01$

表 4、三七总皂苷静脉注射液对麻醉犬舒张压的影响（Kpa, $\bar{X} \pm SD$ ）

	给 药 前	给 药					后
		即刻	5min	15min	30min	60min	

阴性对照组	13.5±1.2	13.6±1.1	13.6±1.1	13.3±1.2	13.3±1.1	13.4±1.1
阳性对照组	13.2±1.4	11.5±2.0	12.8±1.8	13.5±1.6	13±0.8	13.3±1.2
低剂量组	14.0±1.8	12.6±2.2	8.7±3.4 [*]	10.1±3.4	11.3±2.6	13.6±1.0
中剂量组	14.3±1.5	11.0±2.6	12.0±2.4	13.4±1.0	13.4±1.1	13.9±1.5
高剂量组	14.4±1.9	9.9±4.6	12.8±2.2	14.2±1.9	14.0±1.5	14.2±1.6

给药前后比较, *P<0.05, **P<0.01; 与阴性对照组比较, [#]P<0.05, ^{##}P<0.01

表 5、三七总皂苷静脉注射液对犬平均压的影响 (Kpa, X±SD)

	给 药 前	给 药 后				
		即刻	5min	15min	30min	60min
阴性对照组	16.3±1.0	16.6±1.1	16.6±1.0	16.6±0.9	16.3±1.2	16.4±1.1
阳性对照组	16.2±1.1	14.1±1.9	15.7±1.2	16.0±1.2	15.7±0.5	15.9±0.8
低剂量组	16.1±1.5	15.3±1.8	10.7±3.5 ^{###}	12.4±3.8	14.1±2.4	16.9±1.0
中剂量组	17.5±1	13.6±2.7 [*]	14.2±2.3 [*]	16.1±1.3	16.3±1.0	16.6±1.2
高剂量组	16.6±1.1	12.3±4.1	15.5±2.3	16.8±1.5	17.0±1.4	17.3±1.1

给药前后比较, *P<0.05, **P<0.01; 与阴性对照组比较, [#]P<0.05, ^{##}P<0.01

3) 三七总皂苷静脉注射液对麻醉犬脑血流量的影响

由表 6 可见, 三七总皂苷静脉注射液各剂量组给药后即刻使脑血流量升高 (P<0.05), 其中三七总皂苷静脉注射液低、中剂量组可维持 5min, 而高剂量组可维持 15min, 尔后又逐渐恢复到给药前水平。

表 6、三七总皂苷静脉注射液对麻醉犬脑血流量的影响 (ml/g/min, X±SD)

	给 药 前	给 药 后				
		即刻	5min	15min	30min	60min
阴性对照组	1.83±0.17	1.84±0.17	1.85±0.17	1.87±0.20	1.93±0.22	1.85±0.17
阳性对照组	1.78±0.14	2.23±0.15 ^{**}	2.21±0.14 ^{**}	2.12±0.09 ^{**}	2.07±0.09 [*]	2.00±0.12
低剂量组	1.92±0.22	2.26±0.22 [*]	2.23±0.21 [*]	1.94±0.21	1.96±0.17	2.08±0.26
中剂量组	1.82±0.21	2.34±0.13 ^{**}	2.28±0.09 ^{**}	2.10±0.17	1.91±0.22	1.91±0.20
高剂量组	1.85±0.25	2.33±0.27 [*]	2.27±0.25 [*]	2.24±0.23 [*]	2.00±0.33	1.97±0.36

给药前后比较, *P<0.05, **P<0.01; 与阴性对照组比较, [#]P<0.05, ^{##}P<0.01

4) 三七总皂苷静脉注射液对麻醉犬脑血管阻力的影响

由表 7 可见, 三七总皂苷注射液各剂量组给药即刻使脑血管阻力降低 ($P<0.01$), 此种作用一直可维持到给药后 15min, 尔后又逐渐恢复到给药前水平 ($P>0.05$)。

5 表 7、三七总皂苷注射液对麻醉犬脑血管阻力的影响 ($\bar{X} \pm SD$)

	给 药 前	给 药				后
		即刻	5min	15min	30min	60min
阴性对照组	9.06 \pm 0.56	9.07 \pm 0.61	9.04 \pm 0.64	8.97 \pm 0.76	8.58 \pm 0.86	8.89 \pm 0.60
阳性对照组	9.10 \pm 0.54	6.33 \pm 0.81 ^{***}	7.13 \pm 0.32 ^{***}	7.37 \pm 0.47 ^{**}	7.61 \pm 0.27 ^{**}	7.99 \pm 0.27 [*]
低剂量组	8.43 \pm 0.35	6.79 \pm 0.82 ^{***}	4.91 \pm 1.68 ^{***}	6.43 \pm 2.02 [*]	7.35 \pm 1.60	8.33 \pm 1.30
中剂量组	9.82 \pm 1.38	5.76 \pm 0.91 ^{***}	6.22 \pm 0.90 ^{***}	7.71 \pm 0.79 [*]	8.67 \pm 1.11	8.81 \pm 0.92
高剂量组	9.13 \pm 0.91	5.20 \pm 1.42 ^{***}	6.84 \pm 0.93 ^{***}	7.58 \pm 0.62 [*]	8.79 \pm 1.48	9.22 \pm 1.78

给药前后比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$; 与阴性对照组比较, [#] $P<0.05$,
^{##} $P<0.01$

(10) 结 论

三七总皂苷静脉注射液在给药短期内可引起麻醉犬的心率及血压的降低, 随之恢复到给药前水平, 这种作用并不随给药剂量的增加而增强。三七总皂苷静脉注射液可显著地增加实验动物的脑血流量及降低其脑血管阻力, 此二种作用也在给药后一定时间后恢复到给药前水平。

实施例 8, 三七总皂苷静脉注射液对血液流变学及微循环的影响

15 (1) 受试药物: 5%三七总皂苷注射液: 丽珠集团利民制药厂生产, 规格 100ml, 批号 20000301。临床用三七总皂苷注射液为每次静脉滴注 350mg/250ml (以三七总皂苷计), 一日 1~2 次, 28 天为一疗程。实验时用生理盐水将药物分别配成所需的 2.5%, 1.25% 和 0.63% 浓度, 放入 4℃ 冰箱备用。阳性药 (复方丹参注射液): 2ml/支, 每 ml
 20 含丹参、降香各 1g, 广东永康药业有限公司提供, 批号: 0007001。实验时用生理盐水将药物配成所需浓度, 放入 4℃ 冰箱备用。

主要试剂: 高分子右旋糖酐, 分子量 500 000, 瑞典产品。二磷酸腺苷 (ADP) 二钠盐, FARCO 产品。肝素钠, 中国医药公司北京采购供应站提供。乌拉坦, 上海化学试剂采购供应站提供。戊巴比妥钠,

广州化学试剂厂。

(2) 受试动物

昆明种小鼠，体重 18-24g，雌性（♂）和雄性（♀）各半。SD 大鼠，体重 190-260g，♂ ♀ 各半。新西兰大白兔，2.0-2.5kg，♂ ♀ 兼用。
5 实验所用动物领回后，雌雄分开，大、小鼠每笼 5 只，兔每笼 1 只，适应性饲养 3 天，观察其行为、活动、大小便无异常后即可用于实验。动物自由进食，动物培养室光照充足，通风良好，室温控制在 20-25℃，相对湿度 45-65%，常规消毒，专人管理。

(3) 三七总皂苷静脉注射液剂量设置

10 三七总皂苷静脉注射液临床剂型为氯化钠静脉滴注剂，成人用量为 350mg（三七总皂苷）/次，1-2 次/天。根据三七总皂苷静脉注射液的 LD₅₀ 及毒性实验结果，本实验成人日用量按 350mg/天计算。试药三七总皂苷静脉注射液所用剂量按实验动物与成人用药换算转换因子，分别计算出受试动物用药的等效量，然后取其 1，2，4 倍量作为实验
15 的低、中、高 3 个剂量组的剂量。阳性药复方丹参注射液用其等效量。

1) 小鼠用药剂量：小鼠等效量=350/60×35/3=68mg/kg，小鼠低剂量=68×1=68mg/kg，小鼠中剂量=68×2=136mg/kg，小鼠高剂量=68×4=272mg/kg。

2) 大鼠用药剂量：大鼠等效量=350/60×35/6=34mg/kg，大鼠低剂量=34×1=34mg/kg，大鼠中剂量=34×2=68mg/kg，大鼠高剂量=34×4=136mg/kg。
20

3) 兔用药剂量：兔等效量=350/60×35/12=17mg/kg，兔低剂量=17×1=17mg/kg，兔中剂量=17×2=34mg/kg，兔高剂量=17×4=68mg/kg。

4) 阳性药对照组复方丹参注射液用药剂量：成人临床用量：20ml/天，静滴。小鼠等效量=20/60×35/3=3.9ml/kg≈4ml/kg，大鼠等效量=20/60×35/6=1.94ml/kg≈2ml/kg，兔等效量度=20/60×35/12=0.97ml/kg≈1ml/kg。
25

5) 空白对照组：给同体积生理盐水。

(4) 给药途径与方法 给药途径为静注（iv），与临床用药一致。
30 给药体积分别为小鼠 13ml/kg、大鼠 3.2ml/kg、兔 1.6ml/kg。

(5) 实验方法

1) 小鼠凝血时间测定(玻片法)

取昆明种小鼠 50 只, 雌雄各半, 体重 18-24g, 随机分为 5 组, 即空白对照组, 阳性药对照组, 三七总皂苷注射液低、中、高剂量组。各组小鼠按上述剂量由尾静脉注射给药, 连续三天。于末次给药后 30min, 自小鼠眼球后静脉丛取血两滴, 滴载玻片两端各一滴, 血滴直径约 5mm, 立即用秒表记录时间, 每隔 30s 用清洁的 4 号针头自血滴边缘向里轻轻挑动一次, 观察有无血丝挑起, 从采血开始至挑起血丝止, 所经历时间即为凝血时间。另一滴血供最后作复验。实验结果如表 8 所示, 表明: 给动物静注三七总皂苷注射液或复方丹参注射液后, 凝血时间较给生理盐水的空白对照组明显延长, 统计学检验结果表明, $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$, 差异非常明显。三七总皂苷注射液的抗凝血作用随剂量增大而增强, 但三个剂量组之间无明显差异。

表 8、药物对小鼠凝血时间的影响 (n=10)

组 别	药物及剂量	凝血时间 (s)
空白对照组	生理盐水, 13ml/kg	95.9 ± 19.59
阳性对照组	复方丹参注射液, 4 ml/kg	128.8 ± 30.64*
低剂量组	0.63%三七总皂苷注射液, 68mg/kg	120.4 ± 31.35
中剂量组	1.25%三七总皂苷注射液, 136mg/kg	128.0 ± 25.33*
高剂量组	2.5%三七总皂苷注射液, 272mg/kg	137.2 ± 29.29**

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 与空白对照组比较。

2) 大鼠体内血栓形成实验

取 SD 大鼠 50 只, 雌雄各半, 体重 220-280g, 随机分为 5 组, 即空白对照组, 阳性药对照组, 三七总皂苷注射液低、中、高剂量组。各组大鼠按上述剂量由尾静脉注射给药, 连续两天。第三天进行体内血栓形成实验。在 20%乌拉坦麻醉下 (1g/kg, ip), 自颈部正中切口, 分离右侧颈总动脉及左侧颈外静脉。在 3 段相套的聚乙烯管 (两端管内径 1mm, 长 10cm, 中段管内径 2mm, 长 8cm) 的中段管放入一根长 5cm 的 4 号手术线, 将肝素生理盐水溶液 (50u/ml) 充满聚乙烯管。将管的一端插入左侧颈外静脉后, 从聚乙烯管注入肝素, 50u/kg, 然后夹住管壁, 将管的另一端插入右侧颈总动脉。手术完成后自颈外静脉注射药物 (剂量同上述)。于给药后 5min 放开血流, 血液则由右侧颈总

动脉经聚乙烯管流入左侧颈外静脉。放开血流 15min 后中止血流，迅速取出丝线称重。总重量减去丝线重即为血栓湿重。按下列公式计算其抑制率：

$$\text{抑制率}(\%) = (\text{对照组血栓重} - \text{给药组血栓重}) \div \text{对照组血栓重} \times 100\%$$

实验结果如表 9 所示，表明：给动物静注三七总皂苷注射液或复方丹参注射液后，大鼠体内血栓湿重较给生理盐水的空白对照组明显减轻，经统计学处理， $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ ，差异非常明显。三七总皂苷注射液的抗血栓形成作用随剂量增大而增强，但三个剂量组之间无明显差异。

表 9、药物对大鼠体内血栓形成的影响 (n=10)

组 别	药物及剂量	血栓湿重 (mg)	抑制率 (%)
空白对照组	生理盐水, 3.2ml/kg	27.2 ± 5.65	
阳性对照组	复方丹参注射液, 2ml/kg	16.6 ± 5.33**	39.0
低剂量组	1.25%三七总皂苷注射液,	21.9 ± 4.95*	19.5
	34mg/kg	21.1 ± 6.61*	22.4
中剂量组	2.5%三七总皂苷注射液,	19.3 ± 5.36**	29.0
高剂量组	68mg/kg		
	5%三七总皂苷注射液,		
	136mg/kg		

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 与空白对照组比较。

3) 大鼠血液粘度、红细胞压积及血小板聚集率的测定

取 SD 大鼠 50 只，雌雄各半，体重 220–280g，随机分为 5 组，即空白对照组，阳性药对照组，三七总皂苷注射液低、中、高剂量组。各组大鼠按上述剂量由尾静脉注射给药，连续三天。于末次给药后 15min，在 20%乌拉坦麻醉下 (1g/kg, ip)，自大鼠腹主动脉取血。先取 4ml 血液，1%肝素抗凝 (150 μ l 肝素：4ml 血液)，用于全血粘度、血浆粘度及红细胞压积的测定。然后再取 4ml 血液，3.8%枸橼酸钠抗凝 (1:9)，用于血小板聚集率的测定。

血液粘度的测定：使用 LG-R-80A 型自动冲洗血液粘度测定仪 (北京世帝科学仪器公司生产) 进行检测。分别测定 150, 30, 5, 1 秒^{-1} 的全血粘度及血浆粘度。操作步骤按仪器说明书进行。

红细胞压积的测定：取全血 1ml 注入 RBC 压积管内，离心，3000rpm

×30min, 记录压积管红细胞柱高度。

红细胞压积=红细胞柱高度÷全血柱高度×100%

血小板聚集率的测定: 将 3.8%枸橼酸钠抗凝的血液离心, 800rpm
×6min, 上层液即为富血小板血浆 (PRP), 取出 PRP 后, 剩余的血再离
心, 3000rpm×10min, 上清即为贫血小板血浆 (PPP)。在 ADP (5×10^{-6} mol/L) 的诱导下, 使用 PABER-1 型血小板聚集及凝血测试仪 (北
京世帝科学仪器公司产品) 测定 5min 内大鼠血小板聚集率。操作步骤
按仪器说明书进行。

实验结果如表 10 和表 11 所示。表 10 表明: 三七总皂苷注射液高
剂量组对大鼠全血粘度、血浆粘度及红细胞压积有明显的降低作用,
而三七总皂苷注射液低、中剂量组对大鼠全血粘度、血浆粘度及红细
胞压积则未见明显的影响。复方丹参注射液对低切变率 (5 s^{-1} 及 1 s^{-1})
下的全血粘度有作用, 对其它指标则无明显影响。表 11 表明: 给动物
静注三七总皂苷注射液或复方丹参注射液后, 大鼠血小板聚集率较给
生理盐水的空白对照组明显降低, 经统计学处理, $P < 0.01$, 差异非常显
著。三七总皂苷注射液的抗血小板聚集作用随剂量增大而增强, 高剂
量组与低、中剂量组之间, 有明显差别, $P < 0.01$, 但低、中两个剂量
组之间无明显差异。

表 10、药物对大鼠血液粘度和红细胞压积的影响 (n=10)

组 别	全 血 粘 度				血浆粘度 (%)	
	红细胞压积					
	150 s^{-1}	30 s^{-1}	5 s^{-1}	1 s^{-1}		
空白对照组	6.9 ± 0.79	8.5 ± 0.64	11.5 ± 1.29	18.9 ± 2.61	2.2 ± 0.83	45.3 ± 4.88
阳性对照组	6.8 ± 0.93	7.8 ± 1.00	$10.0 \pm 1.40^*$	$15.9 \pm 2.85^*$	1.8 ± 0.36	45.9 ± 4.01
低剂量组	7.1 ± 1.07	8.3 ± 1.05	10.7 ± 1.71	17.5 ± 2.80	1.8 ± 0.43	44.3 ± 3.20
中剂量组	7.4 ± 0.85	8.5 ± 0.91	11.2 ± 1.33	17.8 ± 2.38	1.8 ± 0.21	47.7 ± 2.06
高剂量组	$5.8 \pm 0.69^*$	$7.0 \pm 0.73^*$	$9.0 \pm 1.04^*$	$13.8 \pm 1.92^*$	$1.6 \pm 0.26^*$	$40.0 \pm 4.47^*$

* $P < 0.05$, 与空白对照组比较。

表 11、药物对大鼠血小板聚集率的影响 (n=10)

组 别	药物及剂量	最大聚集率 (%)
空白对照组	生理盐水, 3.2ml/kg	86.2 ± 4.43
阳性对照组	复方丹参注射液, 2ml/kg	$48.9 \pm 7.14^{**}$

低剂量组	1. 25%三七总皂苷注射液,	68.1±11.10** ^{##}
中剂量组	34mg/kg	62.6±8.58** ^{##}
高剂量组	2. 5%三七总皂苷注射液, 68mg/kg	47.9±7.88**
	5%三七总皂苷注射液, 136mg/kg	

**P<0.01, 与空白对照组比较。^{##} P<0.01, 与高剂量组比较。

4) 兔眼球结膜微循环观察

取新西兰大白兔 30 只, 体重 2.0–2.5kg, 雌雄兼用, 随机分成 5 组 (每组 6 只), 即空白对照组, 阳性药对照组, 三七总皂苷静脉注射液低、中、高剂量组。在 3%戊巴比妥钠麻醉下 (30mg/kg, iv), 兔取侧卧位, 用开睑器分开左眼眼睑, 采用 MTV-3801CB 型微循环显微电视录像系统 (上海市激光技术研究所) 观察兔左眼球结膜微循环。经 0.01mm 物镜测微尺 (上海第三光学仪器厂) 标定后, 测得系统放大倍数为 2800 倍。在观察正常的眼球结膜微循环的大体流态后, 自兔耳缘静脉注入 10% 高分子右旋糖酐, 6ml/kg, 造成急性微循环障碍, 观察微循环变化。15min 后, 按前述剂量给药, 分别静注生理盐水、三七总皂苷注射液或复方丹参注射液, 给药体积均为 1.6ml/kg。给药后 15min 观察同一视野微循环变化。

观察指标

15 红细胞流态: 根据有关文献及本实验室实验结果, 将红细胞流态分 6 个等级, 即线流, 线粒流, 粒线流, 粒流, 瘀滞, 停止。

毛细血管网交点: 观察的区域边界由小动脉小静脉组成, 计算该区毛细血管与边界 (血管) 的交点数, 未与边界相交者不计算其内。

20 结果如表 12 所示, 表明: 兔眼球结膜微循环在静脉注射 10% 高分子右旋糖酐后, 血流由正常线流或线粒流变为粒流或粒线流, 血流速度明显变慢, 个别出现瘀滞和摆流, 甚至停止。但未见明显的血栓或血管变形现象。注射生理盐水后, 血流变化不明显。注射三七总皂苷静脉注射液或复方丹参注射液后, 微循环血流明显加快, 流速多变为线粒流状态。毛细血管网交点也较用药前增加, 其中三七总皂苷静脉注射液高剂量组及阳性药组自身给药前后对比及与空白对照组比较, 25 P<0.05 或 P<0.01, 增加十分明显。

表 12、药物对兔眼球结膜微循的影响 (n=6)

组 别	血流状态		毛细血管网交点	
	给药前	给药后	给药前	给药后
空白对照组	粒流	粒流	3.0 ± 0.89	2.7 ± 0.82
阳性对照组	粒流	粒线流	2.5 ± 0.84	$3.5 \pm 0.55^{\#}$
低剂量组	粒流	粒线流	3.0 ± 0.89	2.8 ± 0.75
中剂量组	粒流	粒线流	2.7 ± 0.81	4.0 ± 1.41
高剂量组	粒流	粒线流	2.3 ± 1.03	$4.2 \pm 1.17^{*\#}$

* $P < 0.01$, 与空白对照组比较。# $P < 0.05$, $^{##} P < 0.01$, 与给药前比较。

(7) 统计学处理

所有实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 由 SPSS 统计软件进行单因素方差分析和 t 检验。

5 (8) 结论

本实验结果表明, 三七总皂苷静脉注射液有明显的活血化瘀作用, 能显著延长小鼠的凝血时间, 抑制大鼠体内血栓形成, 对正常大鼠的血液粘度及血球压积, 高剂量组的作用较为明显。三七总皂苷静脉注射液体内用药对大鼠血小板聚集也有显著的抑制作用。对兔眼球结膜微循环障碍状态, 三七总皂苷静脉注射液有显著的改善作用, 能加快血流速度, 增加毛细血管开放数。在本实验所用剂量范围内, 三七总皂苷注射液的作用表现一定的剂量依赖性, 但高、中、低三个剂量组之间未见明显的差异。

实施例 9, 本发明静脉注射液的 pH 值稳定性实验

15 表 13 PH 值测定结果

样品 A: 血栓通注射液, 内蒙古甘旗卡制药厂

样品 B: 本发明静脉注射液, 丽珠集团利民制药厂

批号(样品 A)	PH 值	批号(样品 B)	PH 值
99110411	4.46	20000305	6.06
2000010011	4.04	20000414	6.00
2000011413	4.64	20000542	5.72
2000012712	4.36	20000544	6.16
2000040512	5.48	20000647	6.16
2000061212	5.02	20000719	6.34

2000072811	5.37	20000859	6.48
2000072812	5.69		
2000090811	5.10		

部颁校准规定血栓通注射液 PH 合格范围为 5.0-7.0, 实验结果显示样品 A 的 PH 与产品批号有相关性, 提示样品 A 的 PH 不稳定, 随着贮存时间延长, PH 有明显下降, 样品 B 的 PH 值比较稳定。

权利要求书

1、三七总皂苷静脉注射液，基本上由浓度为 0.1 mg—14.0 mg（以 Rg1 计）/ml 的三七总皂苷，浓度为 7.5—9.5mg/ml 的等渗剂，浓度为
5 0.1—0.5mg/ml 的 pH 值稳定剂组成；所述注射液的溶剂为注射用蒸馏水。

2、根据权利要求 1 所述的注射液，其特征在于：所述三七总皂苷的浓度为 1.0-7.0mg（以 Rg1 计）/ml。
10

3、根据权利要求 2 所述的注射液，其特征在于：所述三七总皂苷的浓度为 1.0-3.5mg（以 Rg1 计）/ml。

4、根据权利要求 3 所述的注射液，其特征在于：所述三七总皂苷
15 的浓度为 1.4mg（以 Rg1 计）/ml。

5、根据权利要求 1 所述的注射液，其特征在于：所述等渗剂为氯化钠、葡萄糖、山梨醇。

20 6、根据权利要求 1 或 2 或 3 或 4 所述的注射液，其特征在于：所述等渗剂为氯化钠。

7、根据权利要求 6 所述的注射液，其特征在于：所述氯化钠的浓度为 7.5-9.5mg/ml。
25

8、根据权利要求 7 所述的注射液，其特征在于：所述氯化钠的浓度为 8.5mg/ml。

9、根据权利要求 1 或 2 或 3 或 4 或 5 所述的注射液，其特征在于：
30 所述 pH 值稳定剂为柠檬酸钠、柠檬酸、磷酸盐、醋酸盐。

10、根据权利要求 9 所述的注射液，其特征在于：所述 pH 值稳定剂为柠檬酸钠。

11、根据权利要求 10 所述的注射液，其特征在于：所述柠檬酸钠的浓度为 0.1—0.5mg/ml。

12、根据权利要求 11 所述的注射液，其特征在于：所述柠檬酸钠的浓度为 0.3mg/ml。

13、一种生产三七总皂苷静脉注射液的方法，包括以下步骤：（1）用注射用蒸馏水溶解等渗剂，使之浓度为 80—300mg/ml，然后加入活性炭，过滤；（2）滤液中加入三七总皂苷，使之浓度为 0.1 mg—14.0 mg（以 Rg1 计）/ml，搅拌溶解；（3）加入 pH 值稳定剂，使之浓度为 0.1—0.5mg/ml，然后过滤至澄明，灭菌，包装，即得到三七总皂苷静脉注射液。

14、根据权利要求 13 所述的方法，其特征在于：所述三七总皂苷的浓度为 1.4mg（以 Rg1 计）/ml。

15、根据权利要求 13 所述的方法，其特征在于：所述等渗剂为氯化钠，其浓度为 100-200mg/ml。

16、根据权利要求 13 所述的方法，其特征在于：所述等渗剂为葡萄糖，其浓度为 50mg/ml。

17、根据权利要求 13 所述的方法，其特征在于：所述 pH 值稳定剂为柠檬酸钠、柠檬酸、磷酸盐或醋酸盐，其浓度为 0.3mg/ml。

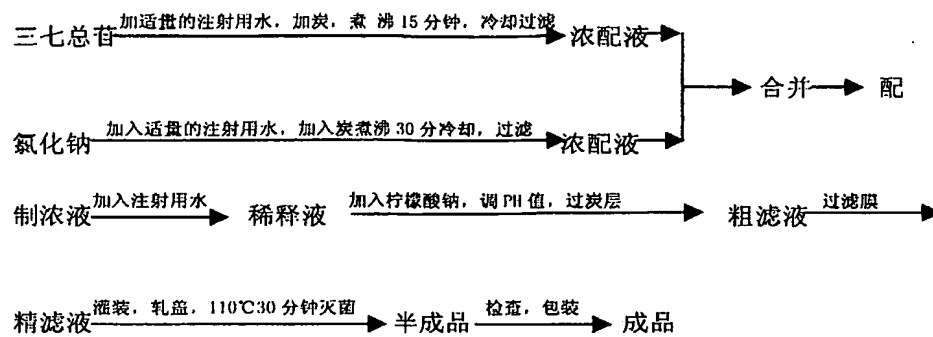


图 1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2004/000409

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC(7):A61K35/78

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC(7):A61K35/78

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Chinese parent applications published by SIPO of china since 1985 and Chinese non-patent literatures published in China

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

WPI(Derwent), CNPAT(CN), JOPAL(JP), CNKI (CN) , CFPASS (CN) , CAPS (US) , MIMOSA (JP)
ESPACC/ACCESS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN,A,1157720, 27.Aug 1997(27.08.97), see whole document	1-17
A	CN,A,1273114, 15.Nov 2000 (15.11.00), see whole document	1-17

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim (S) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search

20.Jul 2004 (20.07.04)

Date of mailing of the international search report

29 · JUL 2004 (29 · 07 · 2004)

Name and mailing address of the ISA/CN
6 Xitucheng Rd., Jimen Bridge, Haidian District,
100088 Beijing, China
Facsimile No. 86-10-62019451

Authorized officer

Li, Mengnan

Telephone No. 86-10-62085335

Form PCT/ISA /210 (second sheet) (July 1998)

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2004/000409

A. 主题的分类

IPC(7):A61K35/78

按照国际专利分类表(IPC)或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类体系和分类号)

IPC(7):A61K35/78

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

从 1985 年以来的中国专利局公布的专利申请和公告的专利以及中国出版的非专利文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称和, 如果实际可行的, 使用的检索词)

WPI(Derwent), CNPAT(CN), JOPAL(JP), CNKI (CN), CFPASS (CN), CAPS (US), MIMOSA (JP)
ESPACC/ACCESS

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求编号
A	CN,A,1157720, 27,8 月,1997(27.08.97), 昆明制药股份有限公司, 参见全文	1-17
A	CN,A,1273114, 15,11 月,2000(15.11.00), 方同华, 参见全文	1-17

☐ 其余文件在 C 栏的续页中列出。☐ 见同族专利附件。

* 引用文件的专用类型:

“A” 明确叙述了被认为不是特别相关的一般现有技术文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先的申请或专利

“L” 可能引起对优先权要求的怀疑的文件, 为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布的在后文件, 它与申请不相抵触, 但是引用它是为了解构成发明基础的理论或原理

“X” 特别相关的文件, 仅仅考虑该文件, 权利要求所记载的发明就不能认为是新颖的或不能认为是有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 权利要求记载的发明不具有创造性

“&” 同族专利成员的文件

国际检索实际完成的日期

20.7 月.2004 (20.07.04)

国际检索报告邮寄日期

29.7 月 2004 (29.07.2004)

国际检索单位名称和邮寄地址

ISA/CN

中国北京市海淀区西土城路 6 号(100088)

传真号: 86-10-62019451

授权官员

电话号码: 86-10-62085335